



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Ana Beatriz Silva Angelo

Impacto da diabetes mellitus tipo 1 (DM1) no sistema reprodutor masculino de ratos:
Uma revisão sistemática e metanálise

MOSSORÓ
2024

Ana Beatriz Silva Angelo

Impacto da diabetes mellitus tipo 1 (DM1) no sistema reprodutor masculino de ratos:

Uma revisão sistemática e metanálise

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Cibele dos Santos Borges

Coorientador: Prof^o. Dr^o. Taffarel Melo Torres

MOSSORÓ

2024

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

AA584 Angelo, Ana Beatriz Silva .
 i Impacto da diabetes mellitus tipo 1 (DM1) no sistema reprodutor masculino de ratos: Uma revisão sistemática e metanálise / Ana Beatriz Silva Angelo. - 2024.
 34 f. : il.

Orientadora: Cibele dos Santos Borges.
 Coorientador: Taffarel Melo Torres.
 Monografia (graduação) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Curso de Biotecnologia, 2024.

1. Diabetes mellitus tipo 1. 2. reprodução masculina. 3. infertilidade. 4. análise espermática. 5. metanálise. I. Borges, Cibele dos Santos, orient. II. Torres, Taffarel Melo, co-orient. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade com AACR2 e os dados fornecidos pelo autor(a).

Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva

CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

Ana Beatriz Silva Angelo

Impacto da diabetes mellitus tipo 1 (DM1) no sistema reprodutor masculino: Uma revisão sistemática e metanálise

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Defendida em: 03 / 04 / 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Cibeles dos Santos Borges (UFERSA)
Presidente

Prof^ª. Dr^ª. Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra (UFERSA)
Membro Examinador

Prof^º. Dr^º. Leonardo Lelis de Macedo Costa (UFERSA)
Membro Examinador

DEDICATÓRIA

*Em memória de Angelo...
Podem se passar décadas, mas sua falta ainda
será sentida.*

*E em memória de Jack, que pela primeira vez
não esteve ao meu lado em um dos maiores
trabalhos de minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado força para chegar até aqui, apesar de todos os murmúrios e lamentações diários, Ele não me abandonou.

Agradeço a minha mãe, por todos os puxões de orelhas, palavras de sabedoria e fé. Obrigada por não ter me deixado desistir, pelo colo que nunca me negastes e por, na minha fraqueza e falta de fé, ter tido ambas por nós duas, jamais esquecerei das horas que passastes de joelhos orando e intercedendo por mim. Te prometo que este é apenas o primeiro passo para muitas outras conquistas.

Agradeço a minha família, que da distância continua a me apoiar e incentivar. Agradeço ao carinho de minhas tias, às palavras motivacionais de meus tios e a fraternidade e confidencialidade de meus primos.

Sou grata a Cibele, por ter me acolhido e nunca desistido de mim, Deus é testemunha das vezes em que meus dramas quase a fizeram chegar no limite. Sou grata pelo seu amparo nas horas em que me senti perdida no mundo acadêmico e por me colocar de volta nos trilhos. Agradeço a Taffarel por ter tido a paciência de sentar comigo e discutir toda ideia que me surgia, todas as informações e dados que levaram a este trabalho, grande parte dele não teria sido realizado sem os seus desafios e instruções.

Agradeço a Ana Carla e Lelis, por terem se disposto de tempo para ler e avaliar este trabalho. Agradeço também por, ao longo de dois anos, terem me aconselhado e me amparado nos momentos em que mais precisei. Vocês podem não se recordar, mas nunca esquecerei das palavras que me direcionaram e que me fizeram continuar, dos momentos em que lhes procurei e que sempre foram receptivos, não poderia ter escolhido pessoas tão sábias e gentis para serem meus examinadores.

Agradeço a Isabel, por ter aceitado o desafio de analisar dezenas de artigos comigo. Agradeço a Aline, pelas indicações literárias e palavras de sabedoria, se me permite o trocadilho, estaria enalhada sem elas. Sou grata a Renata, Adrielle e Lenise, por ouvirem meus surtos e sempre estarem lá para me acompanhar em cada um deles. Obrigada Fred, por apenas estar lá, independente do momento ou horário; sei que não sou uma pessoa fácil de lidar, mas quem aguenta por uma década, pode muito bem aguentar por mais outras.

E sou grata a todos aqueles que fizeram parte desta jornada, àqueles que me apoiaram com palavras de carinho e reestabeleceram a minha fé em mim mesma.

Tudo quanto te vier à mão para fazer, faze-o conforme as tuas forças, porque na sepultura, para onde tu vais, não há obra nem projeto, nem ciência, nem sabedoria alguma. Pois quem observa o vento, nunca semeará, e o que olha para as nuvens nunca segará.

Eclesiastes 9:10; 11:4

RESUMO

A diabetes mellitus (DM) é uma doença endócrino muito comum, onde afeta uma a cada dez pessoas. Em 2021, 537 milhões de pacientes ao redor do mundo foram diagnosticados com DM e 6,7 milhões vinham a óbito, fazendo com que a mesma seja classificada como um grave problema de saúde pública, tendo sua incidência consideravelmente maior em homens do que em mulheres. Apesar dos métodos de controle glicêmicos atuais, os danos sobre diversos sistemas ocasionados pela diabetes persistem, sobre principalmente o sistema reprodutor masculino. Pensando nisto, foi investigado o impacto que o DM tipo 1 ocasiona no sistema reprodutor masculino e como pode estar correlacionado com casos de infertilidade. Estudos de intervenção com controle placebo foram pesquisados utilizando os termos “diabetes” AND “male infertility” no PubMed, ScienceDirect, Scopus e LILACS. Foram identificadas 2886 referências, das quais 9 foram elegíveis para revisão sistêmica e metanálise, sendo selecionados por se tratarem de estudos envolvendo animais induzidos e diagnosticados com DM1 pré-tratamento e que tiveram seus parâmetros espermáticos analisados. Estudos de caso e revisão não foram incluídos. Os resultados da metanálise mostraram que o grupo controle foi estatisticamente favorecido na análise de contagem, motilidade e viabilidade espermática, enquanto na morfologia espermática, as anormalidades foram estatisticamente favorecidas para o grupo diabético, mostrando que o DM1 afetou a qualidade espermática e, consecutivamente, a fertilidade dos animais utilizados nos experimentos.

Palavras-chave: reprodução masculina; infertilidade; análise espermática.

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a very common endocrine disease that affects one in ten people. In 2021, 537 million patients worldwide were diagnosed with DM and 6.7 million died, making it a serious public health problem, with a considerably higher incidence in men than women. Despite current glycemic control methods, the damage to several systems caused by diabetes persists, especially the male reproductive system. With this in mind, we investigated the impact of type 1 DM has on the male reproductive system and how it might be correlated with cases of infertility. Intervention studies with placebo control were searched using the terms “diabetes” AND “male infertility” in PubMed, ScienceDirect, Scopus and LILACS. 2886 references were identified, of which 9 were eligible for systemic review and meta-analysis, and were selected because they were studies involving animals induced and diagnosed with DM1 pre-treatment and which had their sperm parameters analyzed. Case studies and reviews were not included. The meta-analysis results showed that the control group was statistically favored in the analysis of sperm count, motility, and viability, while in sperm morphology, the abnormalities were statistically favored for the diabetic group, showing that DM1 affected sperm quality and, consecutively, the fertility of the animals used in the experiments.

Keywords: male reproduction; infertility; sperm analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Fluxograma de obtenção e seleção de artigos.....	22
Figura 2	– Risco de viés dos artigos que avaliaram o impacto da diabetes na reprodução.....	24
Figura 3	– Forest plot da contagem espermática de ratos normoglicêmicos e diabéticos.....	28
Figura 4	– Forest plot da motilidade espermática de ratos normoglicêmicos e diabéticos.....	28
Figura 5	– Forest plot da viabilidade espermática de ratos normoglicêmicos e diabéticos.....	29
Figura 6	– Forest plot da morfologia anormal dos espermatozoides de ratos normoglicêmicos e diabéticos.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Itens abordados pelas avaliadoras para determinar o risco de viés.....	19
Tabela 2	– Distribuição dos itens avaliados por domínio, tipo de viés e relação.....	20
Tabela 3	– Coeficiente Kappa e nível de concordância.....	20
Tabela 4	– Índice de concordância entre avaliadores de cada item analisado.....	23
Tabela 5	– Dados extraídos dos trabalhos incluídos no estudo.....	26
Tabela 6	– Dados das análises espermáticas extraídos dos trabalhos incluídos no estudo.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABSA	Ana Beatriz Silva Angelo
ADA	American Diabete Associantion
ALX	Aloxana
D1	Domínio 1
D2	Domínio 2
D3	Domínio 3
D4	Domínio 4
D5	Domínio 5
dl	Decilitro
DM	Diabete mellitus
DM1	Diabete mellitus tipo 1
DM2	Diabete mellitus tipo 2
ERO	Espécie reativa de oxigênio
ICQC	Isabel Cristina Queiroz da Costa
INP	Intraperitoneal
INV	Intravenosa
IDF	International Diabete Federation
IMI	Infertilidade masculina idiopática
kg	Quilograma
mg	Miligrama
mtDNA	DNA mitocondrial
STZ	Estreptozotocina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. JUSTIFICATIVA	16
3. OBJETIVOS	17
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
4.1. Critérios para elegibilidade	18
4.2. Busca de estudos	18
4.3. Seleção dos estudos.....	18
4.4. Análise do risco de viés e da concordância entre avaliadores.....	18
4.5. Síntese e extração dos dados	20
4.6. Metanálise	21
5. RESULTADOS	22
5.1. Estudos selecionados.....	22
5.2. Risco de viés	23
5.3. Dados avaliados	24
5.4. Metanálise	27
6. DISCUSSÃO	30
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
REFERÊNCIAS	33

1. INTRODUÇÃO

A diabetes foi documentada há mais de três milênios, sendo os primeiros relatos datados de 1500 a.C., onde médicos egípcios documentaram casos de pessoas que apresentavam micção frequente e rápida perda de peso, seguida do óbito, e seu nome, uma referência a urina adocicada dos pacientes diagnosticados com a mesma, foi criada pelo médico Aretaeus, que viveu na Grécia entre 80-138 d.C. Apesar disto, apenas em 1812 que a doença foi reconhecida como entidade clínica em uma publicação do *The New England Journal of Medicine* (Varela, 2012).

Hodiernamente, a diabetes mellitus (DM) é a doença endócrino mais comum na população mundial, afetando uma em cada dez pessoas, totalizando 537 milhões de pacientes ao redor do mundo, e sendo responsável por 6,7 milhões de óbitos no ano de 2021 (IDF, 2023). A mesma pode ser classificada como: autoimune, também conhecida como diabetes mellitus tipo 1 (DM1), onde os pacientes diagnosticados são dependentes de insulina; diabetes mellitus tipo 2 (DM2), que não são dependentes de insulina; diabetes gestacional, medicamentosa ou infecciosa, como no caso dos pacientes que tiveram SARS-CoV-2, que apresentam susceptibilidade 64% maior de desenvolver diabetes se comparados com aqueles que não tiveram o vírus (ADA, 2010; Lai *et al.*, 2022).

A DM1 pode ser caracterizada como uma doença proveniente da falha na secreção de insulina pelas células β -pancreáticas, levando o paciente a desenvolver o possível estado de hiperglicemia crônica, que pode ocasionar danos crônicos, como disfunção e falência de órgãos, em que os mais afetados estão: olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos (ADA, 2010). E, apesar do desenvolvimento de novos fármacos e novas tecnologias para o controle glicêmico, ainda há muitas complicações que estão relacionadas à diabetes, principalmente para os portadores de DM1, como a retinopatia, nefropatia e neuropatia (Crofford, 1995).

Apesar de não termos confirmado a causa exata da infertilidade masculina idiopática (IMI), há uma associação persistente entre ela e o estresse oxidativo (Sengupta *et al.*, 2022). Estudos com foco no sistema reprodutor masculino demonstraram que o estresse oxidativo gerado pelo DM, independentemente do tipo, ocasiona efeitos prejudiciais na qualidade espermática, principalmente na motilidade espermática, integridade do núcleo e DNA mitocondrial (mtDNA) e nos compostos do plasma seminal, prejudicando a fertilidade dos homens diagnosticados com diabetes (Agbaje *et al.*, 2007; La Vignera *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2015).

Dessa forma, o estresse oxidativo provocado pelo DM, independentemente do tipo, está associado aos danos no núcleo e no DNA mitocondrial dos espermatozoides, prejudicando a fertilidade de pessoas do sexo masculino (Agbaje *et al.*, 2007). Como o estudo documentado por Roessner (2012), que foram realizados com pacientes masculinos em idade reprodutiva diagnosticados com DM1 ou DM2, que mostrou que os espermatozoides ejaculados de homens diabéticos quando comparados aos ejaculados de homens saudáveis, apresentaram concentrações significativamente maiores de DNA fragmentado, potencial mitocondrial transmembrana rompido, espécies reativas de oxigênio (ERO) e caspase 3 ativada.

Em outro estudo, também foi apontado os efeitos das EROs nos espermatozoides e correlacionou a presença elevada destes com a infertilidade masculina, onde altos níveis de EROs foram detectados no ejaculado de 25 a 40% de homens inférteis. Os peróxidos resultantes do estresse oxidativo nos espermatozoides, fazem com que haja danos na membrana plasmática devido à alta produção de enzimas citoplasmáticas, entre elas a glicose-6-fosfato desidrogenase, superóxido dismutase, creatina quinase e ácido láctico desidrogenase. Em relação às duas primeiras enzimas supracitadas, ambas ocasionam o aumento do ânion superóxido que aumenta a produção de peróxido, concomitantemente, aumentando o dano na membrana plasmática e levando ao excesso de citoplasma residual na peça intermediária (Agarwal; Saleh, 2002b).

Muito se tem pesquisado sobre a DM e seus impactos no organismo (Kalaitzoglou *et al.*, 2016; Marin *et al.*, 2018; Ling *et al.*, 2020), assim como diversos tratamentos desenvolvidos para o controle glicêmico (Marre *et al.*, 2002; Erejuwa *et al.*, 2011; Nansel; Lipsky; Liu, 2016; Affres *et al.*, 2020). Entretanto, uma vez diabético, o indivíduo se torna suscetível aos mais diversos efeitos no organismo oriundos diretamente do aumento da glicose na corrente sanguínea e indiretamente devido ao aumento de espécies reativas de oxigênio provocados por esta síndrome (Mäkimattila *et al.*, 1996; Rolo; Palmeira, 2006; Jafar; Edriss; Nugent, 2016;).

Sabendo que o sistema reprodutor masculino é completamente suscetível ao aumento de espécies reativas de oxigênio e que este aumento provoca danos diretos na espermatogênese e na qualidade espermática, e consecutivamente na fertilidade (Agbaje *et al.*, 2007; La Vignera *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2015; Sengupta *et al.*, 2022), torna-se importante pesquisar sobre seus danos e como é possível mitigá-los.

Como a frequência de pacientes diabéticos tem aumentado progressivamente a cada ano, assim como a porcentagem de casais inférteis sem determinação da causa de infertilidade, vários estudos tem pesquisado esta ligação direta entre DM e problemas de qualidade espermática (ADA, 2010; Lai *et al.*, 2022; IDF, 2023). Contudo, podemos afirmar que estatisticamente há uma correlação entre a coexistência da DM1 e da infertilidade nestes pacientes?

2. JUSTIFICATIVA

Assim, o presente trabalho se justifica devido ao fato de não encontrarmos na literatura uma revisão abrangente que envolvesse de forma precisa e comparativa os achados na literatura sobre a correlação DM e qualidade espermática. Além disso, um artigo de revisão sobre este tema poderia auxiliar pesquisadores, direcionando-os sobre os gaps importantes que ainda se falta avaliar, assim como a comunidade médica e principalmente os pacientes diabéticos quanto aos impactos da diabete na reprodução. Portanto, foi realizado uma revisão sistemática e, conseqüentemente, uma metanálise com estudos experimentais sobre o tema aqui abordado. E, devido ao amplo uso dos roedores, por causa de sua homologia com a espécie humana, os mesmos foram o modelo escolhido para este trabalho.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve como objetivo geral realizar uma revisão sistemática, seguida de uma metanálise, com estudos experimentais a fim de determinar o impacto da DM1 na fertilidade de roedores adultos.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Avaliar os estudos selecionados quanto a metodologia utilizada;
- Determinar o risco de viés de cada estudo;
- Analisar os estudos relacionados com impactos sobre a qualidade espermática;
- Avaliar os impactos da diabetes mellitus tipo 1 na concentração, vigor, viabilidade e morfologia espermática;
-

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Critérios para elegibilidade

Os estudos selecionados foram:

- Estudos experimentais;
- Estudos envolvendo animais adultos;
- Estudos com foco em DM1;
- Estudos com indução e diagnóstico do DM1 pré-tratamento;
- Estudos com ou sem intervenção medicamentosa;
- Estudos que realizaram análises espermáticas;
- Estudos publicados entre 2000 e 2024;
- Estudos classificados com o acesso aberto;
- Estudos que não fossem classificados como relato de caso ou revisão.

Os estudos selecionados foram, posteriormente, esquematizados em um fluxograma feito através do modelo disponibilizado pelo PRISMA 2020 (Page *et al.*, 2021).

4.2. Busca de estudos

Foram realizadas buscas no PubMed, ScienceDirect, Scopus e LILACS, entre o período de 14 a 23 de fevereiro de 2024, utilizando a combinação dos seguintes termos: “diabete” AND “male infertility”. Também foi adicionada linguagem de restrição (AND “not pregnancy”), a fim de excluir definitivamente todos os estudos que envolviam diabete gestacional e/ou estudos com fêmeas. As pesquisas desconsideraram a nacionalidade.

4.3. Seleção dos estudos

Duas avaliadoras (ABSA e ICQC) revisaram de forma independente cada estudo, a fim de remover aqueles duplicados, aplicar os critérios de elegibilidade e realizar a análise do risco de viés. Em casos de divergências, foi acordado entre ambas a introdução de um terceiro avaliador para critério de desempate, o que foi seguido até o momento de inclusão definitiva dos estudos selecionados.

4.4. Análise do risco de viés e da concordância entre avaliadores

A fim de validar os estudos incluídos no presente estudo, foi realizada a análise de risco de viés de cada estudo por duas avaliadoras de forma independente, a ferramenta utilizada foi a Risk of Bias (RoB) desenvolvida pela SYRCLE (SYstematic Review Center for Laboratory animal Experimentation) para estudos em animais (Hooijmans *et al.*, 2014).

Foi elaborada uma planilha de pontuação baseada na metodologia descrita por Hooijmans (2014). Cada avaliadora respondeu 10 itens (Tabela 1) distribuídos em 6 domínios

(Tabela 2), onde as possíveis respostas foram “Não”, “Incerto” ou “Sim”, valendo 0, 0,5 e 1, respectivamente. Em que “Sim” indica baixo risco de viés, “Incerto” indica risco não claro de viés e “Não” indica alto risco de viés.

Ao final da avaliação, foi aplicado o coeficiente Kappa em cada item, a fim de determinar se havia concordância entre as notas das avaliadoras (Tabela 3), assim como para determinar o risco de viés de cada domínio. Os estudos que obtivessem o índice Kappa com concordância mínima (0,01 – 0,20) em mais de 50% dos itens avaliados foram excluídos.

Tabela 1. Itens abordados pelas avaliadoras para determinar o risco de viés.

1. A sequência de alocação foi adequadamente gerada e aplicada?	6. Os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação dos resultados?
2. A distribuição das características basais relevantes foi equilibrada para os grupos intervenção e controle? O momento da indução da doença foi adequado?	7. Foi assegurado o cegamento do avaliador de resultados e era improvável que o cegamento pudesse ter sido quebrado?
3. A alocação para os diferentes grupos foi adequadamente ocultada durante o período?	8. Todos os animais foram incluídos na análise?
4. Os autores colocaram aleatoriamente as gaiolas ou animais dentro do biotério? É improvável que o desfecho ou a mensuração do desfecho tenha sido influenciado por não abrigar aleatoriamente os animais?	9. O protocolo do estudo estava disponível e todos os desfechos primários e secundários pré-especificados do estudo foram relatados no presente manuscrito?
5. Os cuidadores e/ou pesquisadores foram cegados a partir do conhecimento de qual intervenção cada animal recebeu durante o experimento?	10. O estudo foi livre de outros riscos de vieses, tais como contaminação (pooling drugs), influência inapropriada de financiadores, erros de unidade de análise, riscos de viés específico do projeto ou novos animais foram adicionados aos grupos controle e experimental para substituir os abandonos da população original?

Fonte: Adaptado de Hooijmans *et al.*, 2014.

Tabela 2. Distribuição dos itens avaliados por domínio, tipo de viés e relação.

Item	Domínio	Tipo de viés	Relacionado
1 ao 3	1	Seleção	À alocação aleatória dos animais, às características basais destes, à forma adequada de indução da doença e ao cegamento dos pesquisadores para alocação de cada animal
4 e 5	2	Desempenho	Ao cegamento dos participantes e pesquisadores
6 e 7	3	Detecção	Ao cegamento dos avaliadores do desfecho
8	4	Atrito	À possíveis dados ausentes e se estes foram devidamente corrigidos ou equilibrados
9	5	Relatório	À avaliação cega adequada dos resultados
10	6	Outros	À outros problemas que podem ocasionar viés

Tabela 3. Coeficiente Kappa e nível de concordância.

Valor de Kappa	Nível de concordância
< 0	Sem concordância
0 – 0,20	Concordância mínima
0,21 – 0,40	Concordância razoável
0,41 – 0,60	Concordância moderada
0,61 – 0,80	Concordância substancial
0,81 – 1,00	Concordância perfeita

Ao final da análise, foi utilizado o Review Manager (RevMan) versão 5.4.1 da Cochrane, para esquematização dos resultados obtidos em forma de gráfico e sumário. Estudos que apresentassem alto risco de viés em algum domínio foram excluídos, enquanto que estudos que apresentassem baixo risco de viés e/ou viés incerto nos domínios foram incluídos e seguiram para a extração dos dados.

4.5. Síntese e extração dos dados

Foram extraídos os dados presentes nos estudos incluídos, sendo eles contagem espermática ($10^6/\text{mL}$), motilidade espermática (%), viabilidade espermática (%) e

anormalidade morfológica (%). Os trabalhos que não apresentassem dados numéricos representados como média e desvio padrão, não foram considerados para a metanálise.

4.6. Metanálise

Foi utilizado o programa RevMan, onde os dados extraídos e alocados em tabelas foram adicionados para elaboração do gráfico de *Forest plot* e determinação da heterogeneidade dos trabalhos. O mesmo foi configurado para dados contínuos, como também foi aplicado, para o método de análise, a variância inversa e efeitos randômicos. Os dados obtidos foram apresentados em diferença média e com intervalo de confiança de 95%.

5. RESULTADOS

5.1. Estudos selecionados

No presente estudo foram identificadas 2886 referências, sendo aproximadamente 20%, 56%, 23% e 0,1% extraídos do PubMed, ScienceDirect, Scopus e LILACS, respectivamente. Após a análise dos títulos, resumos e aplicação dos critérios de elegibilidade, 9 trabalhos foram elegíveis para revisão sistêmica e metanálise, sendo eles: Mangoli *et al.*, 2013; Ghanbari *et al.*, 2015; Bahmanzadeh *et al.*, 2016; Oridupa *et al.*, 2017; Mohamed *et al.*, 2018; Nna *et al.*, 2018; ALTamimi *et al.*, 2021; Babaei *et al.*, 2021; e Pourheydar *et al.*, 2021. O processo de seleção está representado no fluxograma (Figura 1).

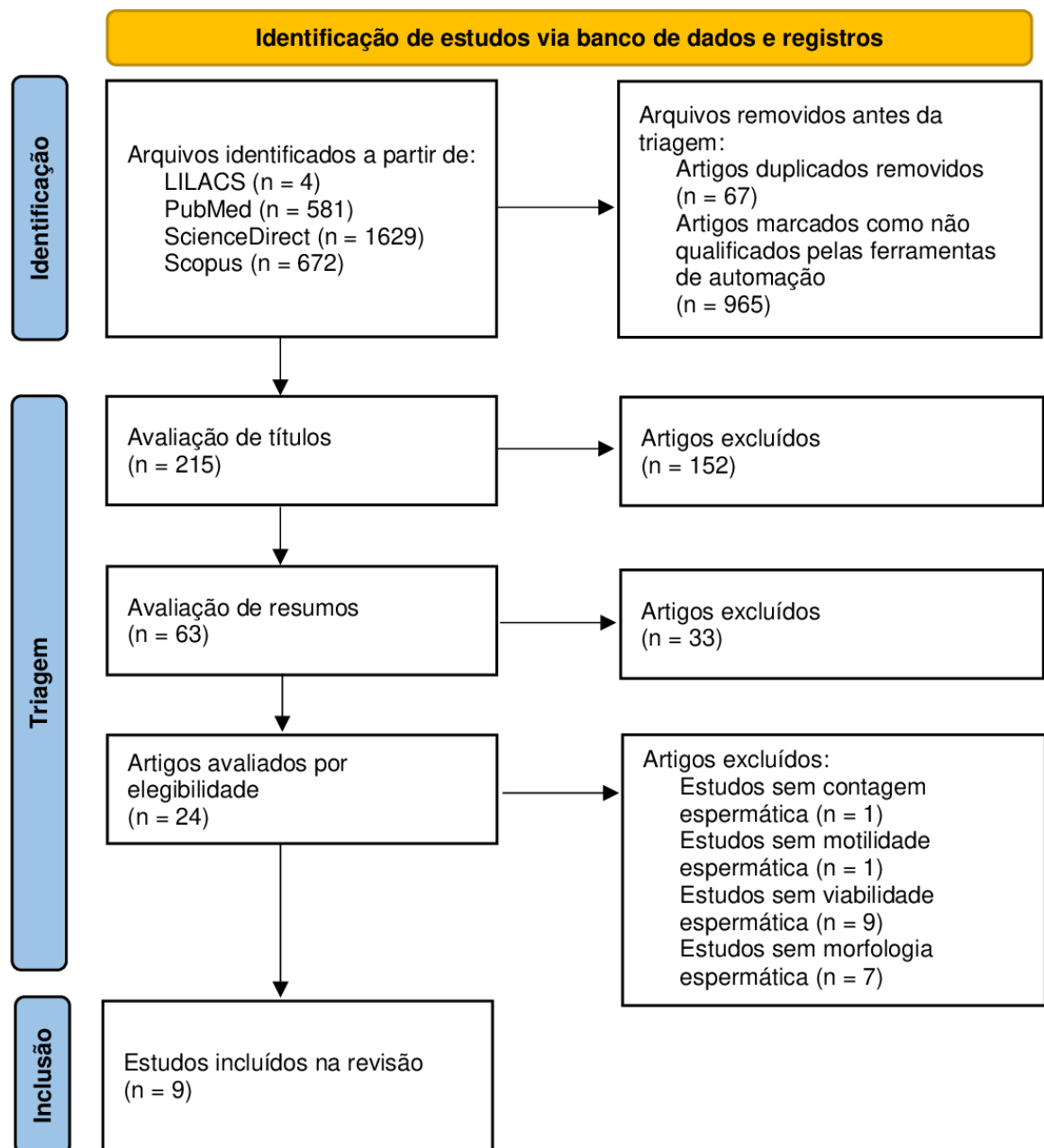


Figura 1. Fluxograma de obtenção e seleção de artigos.

5.2. Risco de viés

Após a análise dos estudos foi realizado o cálculo do coeficiente Kappa, a fim de estipular a variabilidade entre as avaliadoras. Onde os valores de Kappa para o item 1: 0,38; item 2: 0,8; item 5 e 7: 0,125; item 3, 4, 6, 8, 9 e 10: 1. O que significa dizer que houve concordância mínima nos itens 5 e 7; concordância razoável no item 1; concordância substancial no item 2; e concordância quase perfeita nos demais itens (Tabela 4).

Tabela 4. Índice de concordância entre avaliadores de cada item analisado.

Valor de Kappa	Item
0,125	5 e 7
0,38	1
0,80	2
1,00	3, 4, 6, 8, 9 e 10

A análise de risco de viés, realizada com base no Rob da SYRCLE (Hooijmans *et al.*, 2014), mostrou que os 9 artigos que obedeceram aos critérios de elegibilidade apresentaram risco de viés incerto nos domínios de seleção (1), desempenho (2) e detecção (3), enquanto os outros 3 domínios apresentaram baixo risco de viés (Figura 2).

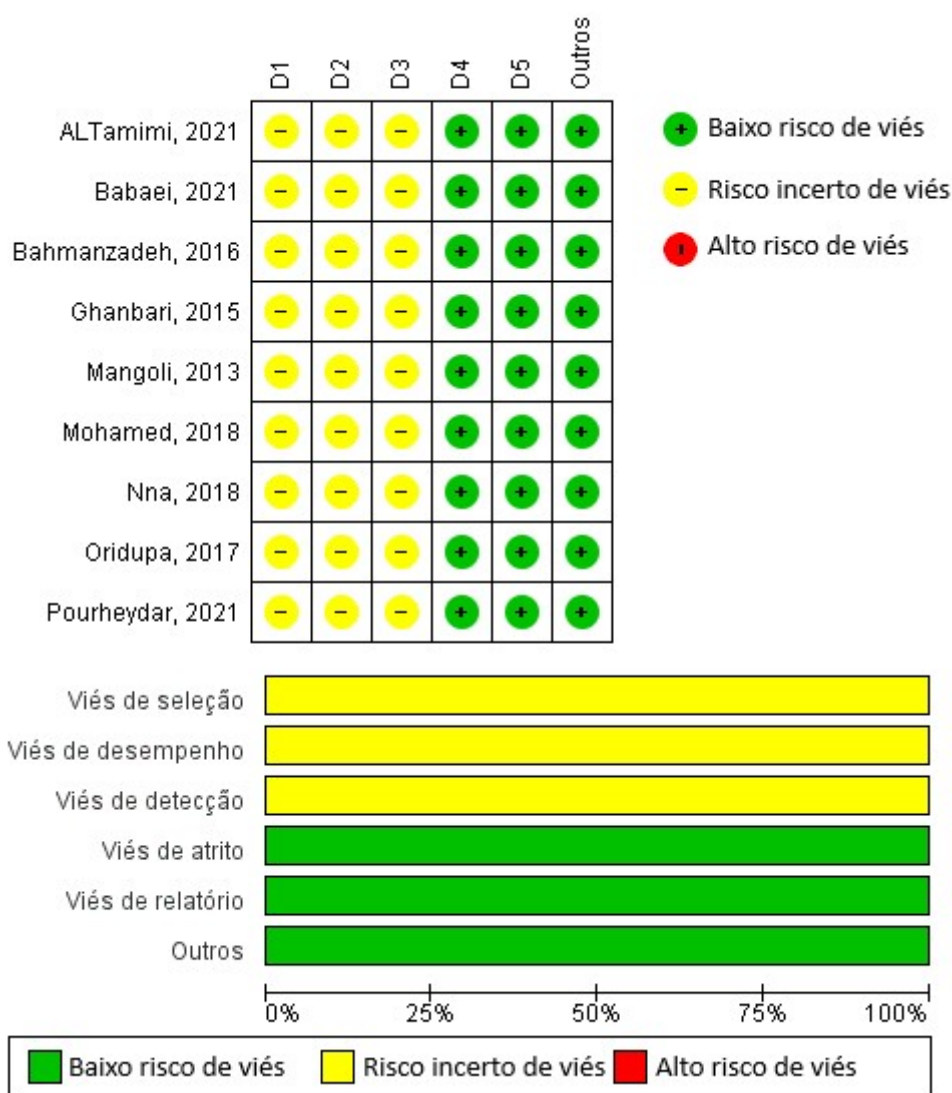


Figura 2. Risco de viés dos artigos que avaliaram o impacto da diabetes na reprodução. Risco de viés para cada estudo incluído e percentual calculado para cada domínio avaliado.

5.3. Dados avaliados

Foram avaliados o tipo de droga utilizada para indução do diabetes, assim como a via de administração e sua dosagem. Como também foi avaliado o índice glicêmico atribuído para o diagnóstico da DM1. As características analisadas acerca dos animais foram a espécie de roedor utilizada, o peso, idade e quantidade de animais alocados por grupo. E a duração do experimento (Tabela 5).

Foi observado que, em aproximadamente 90% dos estudos, o produto químico utilizado para indução da diabetes foi a estreptozotocina (STZ), assim como a via de administração foi a intraperitoneal (INP), enquanto que nos outros 10%, a indução se deu através da aloxana (ALX) e administração pela via intravenosa (INV). A dosagem média de STZ por animal foi de 81,1 mg/kg, tal como a taxa média para o diagnóstico dos animais considerados diabéticos foi de 254,1 mg/dl. A média de duração dos estudos foi de 6 semanas.

Em relação às análises espermáticas realizadas foi observado a forma de avaliação utilizada, onde aproximadamente 80% dos trabalhos utilizaram o hemocitômetro, enquanto 20% optaram pela câmara de Makler (Tabela 5). Em relação aos valores obtidos na contagem, motilidade, viabilidade e anormalidade morfológica (Tabela 6), 100% dos trabalhos relataram a diferença significativa entre os grupos controles e os grupos diabéticos, onde estes apresentaram concentração, vigor e viabilidade inferiores, assim como a porcentagem de anormalidades foi superior quando comparados ao grupo de animais normoglicêmicos.

Tabela 5. Dados extraídos dos trabalhos incluídos no estudo.

Autor	Indução da diabetes mellitus				Animais				Duração do experimento (semanas)	Avaliação espermática
	Droga	Via	Dosagem (mg/kg)	Diagnóstico (mg/dl)	Espécie	Peso (g)	Idade	Quantidade/grupo		
Mangoli et al., 2013	STZ	INP	200	≥ 275	Syrian	35	10 semanas	10	5	MC
Oridupa et al., 2017	ALX	INP	100	> 200	Wistar	140 - 180	14 - 16 semanas	5	2	HCT
Bahmanzadeh et al., 2016	STZ	INP	90	≥ 270	Wistar	200 - 250	Adulto	10	8	HCT
ALTamimi et al., 2021	STZ	INV	65	> 340	Wistar	130 ± 10	Adulto	12	12	HCT
Ghanbari et al., 2015	STZ	INP	60	> 300	Wistar	200 ± 10	Adulto	8	6	HCT
Nna et al., 2018	STZ	INP	60	≥ 252	Sprague Dawley	250 - 300	Adulto	6	4	MC
Pourheydar et al., 2021	STZ	INP	60	> 250	Wistar	250 - 270	4 meses	8	8	HCT
Babaei et al., 2021	STZ	INP	55	≥ 200	Wistar	240	-	6	5	HCT
Mohamed et al., 2018	STZ	INP	40	> 200	Wistar	150 - 170	Adulto	6	4	HCT

Legenda: STZ = estreptozotocina; ALX = aloxana; INP = intraperitoneal; INV = intravenosa; MC = Makler Chamber; HCT = hemocítômetro.

Tabela 6. Dados das análises espermáticas extraídos dos trabalhos incluídos no estudo.

Autor	Contagem ($10^6/\text{mL}$)		Motilidade (%)		Viabilidade (%)		Anormalidade (%)	
	Controle	Diabético	Controle	Diabético	Controle	Diabético	Controle	Diabético
Mangoli et al., 2013	106.5 ± 24.5	22.89 ± 7.72	72.91 ± 9.98	44.22 ± 4.68	75.09 ± 9.42	47.56 ± 6.22	20.0 ± 12.09	46.44 ± 5.91
Ghanbari et al., 2015	49.70 ± 1.17	30.79 ± 1.11	63.25 ± 1.69	47.88 ± 6.01	88.89 ± 0.74	55.48 ± 3.33	3.19 ± 0.12	9.19 ± 0.53
Bahmanzadeh et al., 2016	148.6 ± 12.3	108.7 ± 4.8	57.6 ± 5.6	43.5 ± 5.3	60.2 ± 4.0	17.5 ± 6.4	32.6 ± 3.1	39.3 ± 1.7
Oridupa et al., 2017	131.6 ± 4.66	83.8 ± 4.90	85 ± 4.30	46 ± 7.19	96.8 ± 0.70	86.8 ± 0.71	41.8 ± 3.59	52.6 ± 3.57
Mohamed et al., 2018	76.91 ± 1.72	9.90 ± 0.40	64.25 ± 0.56	41.05 ± 0.47	75.0 ± 0.45	52.0 ± 0.45	13.5 ± 0.39	40.0 ± 0.45
Nna et al., 2018	51.05 ± 5.10	18.00 ± 2.83	80.67 ± 3.01	38.67 ± 8.57	82.83 ± 4.96	42.17 ± 8.16	10.82 ± 1.94	69.33 ± 6.91
ALTamimi et al., 2021	24.3 ± 1.6	11.3 ± 1.2	71.4 ± 8.1	39.5 ± 4.8	89.3 ± 7.6	42.4 ± 8.6	9.85 ± 1.88	48.4 ± 9.22
Babaei et al., 2021	99.40 ± 2.7	48.60 ± 3.5	87.8 ± 3.1	54.0 ± 6.0	89.4 ± 3.6	47.8 ± 5.8	11.6 ± 1.8	38.0 ± 3.4
Pourheydar et al., 2021	116.0 ± 2.78	34.5 ± 2.07	62.00 ± 3.38	22.63 ± 2.77	89.63 ± 2.97	42.38 ± 2.77	14.00 ± 2.56	52.00 ± 2.73

5.4. Metanálise

A partir dos dados extraídos dos estudos selecionados, foi possível realizar a metanálise utilizando o RevMan 5.4.1, onde foram gerados gráficos de *Forest plot* para cada uma das análises espermáticas realizadas, sendo elas contagem (Figura 3), motilidade (Figura 4), viabilidade (Figura 5) e anormalidade morfológica (Figura 6).

Os resultados mostram que o grupo controle foi estatisticamente favorecido em detrimento ao grupo diabético para a contagem, motilidade e viabilidade espermática, enquanto que na morfologia espermática, as anormalidades foram estatisticamente favorecidas para o grupo diabético em detrimento do grupo controle.

Todavia, 100% dos estudos comparados apresentaram um valor de $I^2 > 95\%$, mostrando alta heterogeneidade entre os estudos (El Dib, 2022), o que se deve por causa do número de animais utilizado em cada estudo ser muito variável. O valor calculado para todas as análises foi de $p = 0,0001$, enquanto que o escore Z variou, sendo $Z = 4,96$ para contagem; $9,48$ para motilidade; $8,88$ para viabilidade; e $5,36$ para anormalidade morfológica.

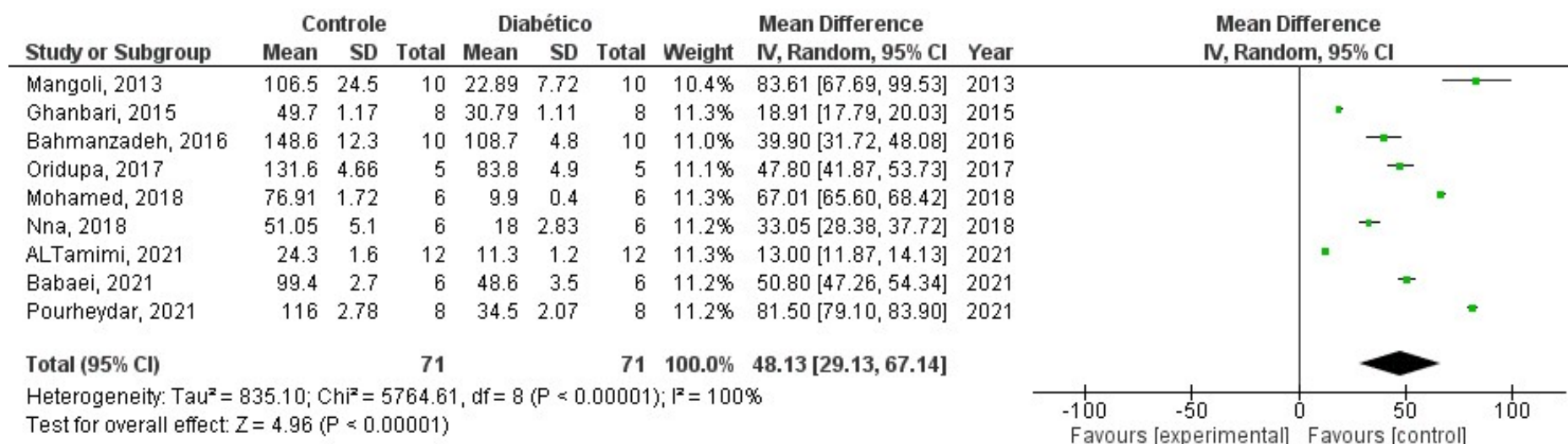


Figura 3. Forest plot da contagem espermática de ratos normoglicêmicos e diabéticos.

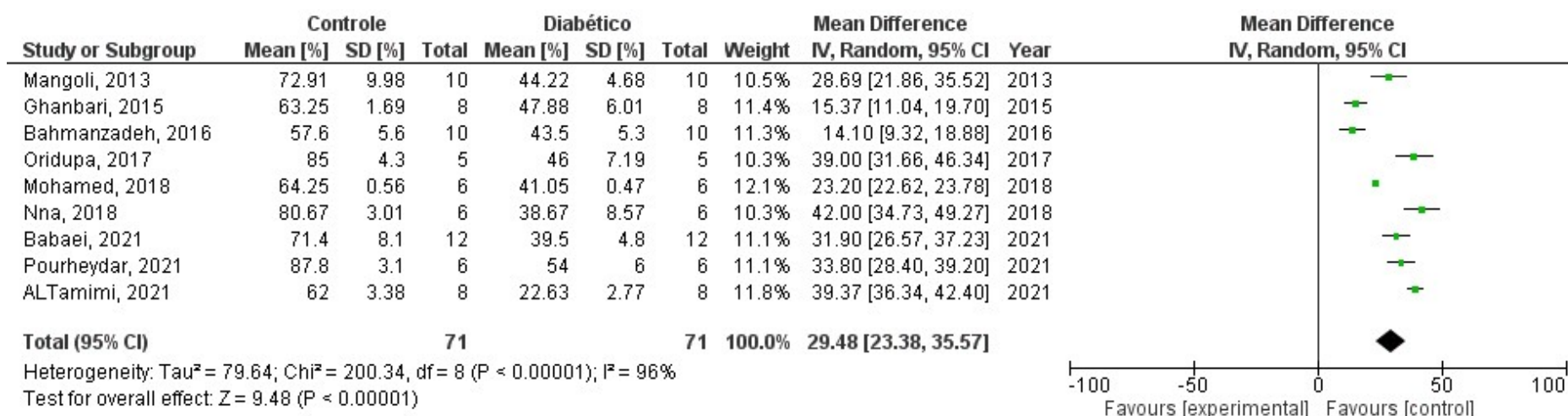


Figura 4. Forest plot da motilidade espermática de ratos normoglicêmicos e diabéticos.

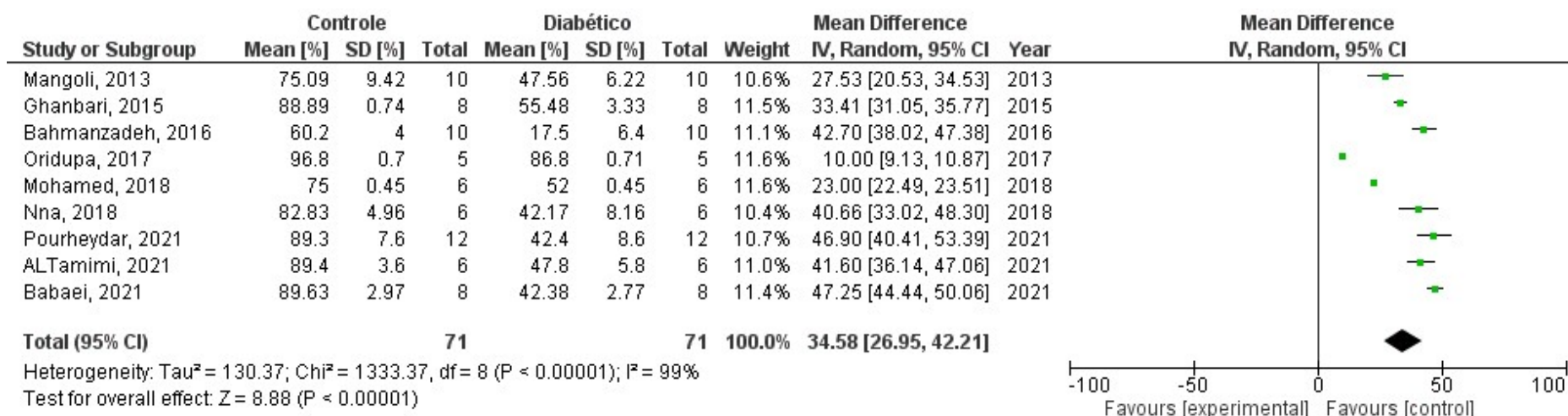


Figura 5. Forest plot da viabilidade espermática de ratos normoglicêmicos e diabéticos.

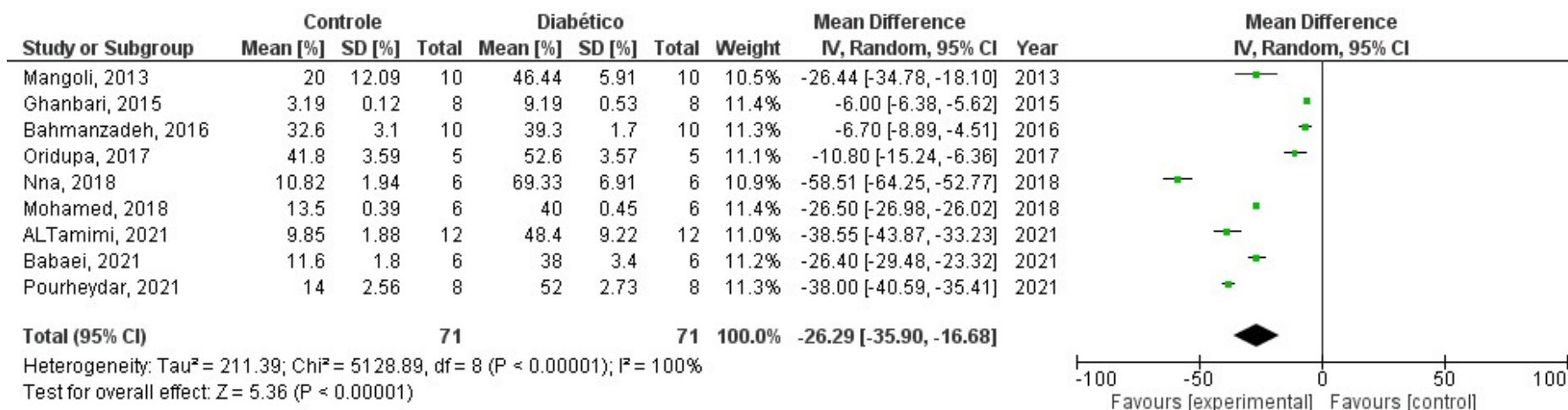


Figura 6. Forest plot da morfologia anormal dos espermatozoides de ratos normoglicêmicos e diabéticos.

6. DISCUSSÃO

O presente trabalho é o primeiro a realizar uma revisão sistemática e metanálise relacionando modelos experimentais com DM e alterações sobre a qualidade espermática. Até o presente momento, não havia sido encontrado na literatura uma revisão abrangente que envolvesse de forma precisa e comparativa os resultados de estudos sobre problemas de fertilidade, especificamente com relação a qualidade espermática e, a DM. Portanto, nossos achados podem auxiliar pesquisadores na área de reprodução, direcionando-os sobre a importância de se avaliar a qualidade do espermatozoide em pacientes diabéticos e ao mesmo tempo incentivando-os a buscar novas metodologias e técnicas que possam mitigar estes efeitos.

Com relação a metanálise, foi elevado o valor de I^2 nos parâmetros avaliados, o que confirma a alta heterogeneidade entre os estudos. O que pode considerar um dado esperado devido à pouca quantidade de informações que os autores de estudos com animais detalham em seus trabalhos (Kilkenny *et al.*, 2009), assim como o número variado de animais que foram utilizados, o que levou a todos os estudos selecionados serem classificados com risco incerto de viés nos domínios de seleção, desempenho e detecção.

Cabe aos pesquisadores que utilizam animais como modelo de estudo, se atentarem para os possíveis vieses que suas metodologias podem apresentar e tentar saná-los ao aderirem programas de randomização, como também aderirem a avaliadores terceiros que não participaram do experimento para realizar suas análises (Friedman *et al.*, 2010).

Por outro lado, é importante ressaltar que a diabetes é uma doença endócrina que atinge milhões de pessoas em todo o mundo, independente do sexo, idade, cor, raça ou crença. Apesar dos meios paliativos de tratamento, os pacientes diagnosticados devem modificar seu estilo de vida ao longo da mesma a fim de controlar os níveis glicêmicos (Suh *et al.*, 2023).

Apesar dos esforços para mitigar as possíveis complicações decorrentes da diabetes, estudos mostram o efeito que a mesma tem sobre o sistema reprodutor. Onde, os ensaios clínicos demonstram seu impacto nas células germinativas masculinas, onde sua concentração (Agbaje *et al.*, 2007), motilidade (Baccetti *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2015), viabilidade (Roessner *et al.*, 2012) e morfologia (Baccetti *et al.*, 2002) são afetadas.

A queda na qualidade espermática de animais experimentais expostos aos mais diversos interferentes ambientais, síndromes ou fármacos está intimamente relacionada com o estresse oxidativo que se desenvolve como consequência de um desequilíbrio entre a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) e o comprometimento do sistema de defesa antioxidante após exposição (Polunas *et al.*, 2011; Agarwal; Saleh, 2002a). Estas espécies reativas são bioprodutos de metabolismo do oxigênio, constantemente produzido em células normais pelas mitocôndrias, especialmente pelos espermatozoides durante o processo de maturação e capacitação espermática, mas sua ação é neutralizada pelo sistema antioxidante celular (Lavranos *et al.*, 2012). No entanto, quando as células testiculares e epididimais são expostas a fatores prejudiciais, como calor excessivo, radiação, produtos químicos, metais vestigiais, doenças autoimunes ou síndromes adquiridas, há uma superprodução dessas moléculas, podendo ocasionar infertilidade (Makker; Agarwal; Sharma, 2009; Cocuzza *et al.*, 2007).

As espécies reativas de oxigênio podem causar danos à função do espermatozoide assim como a integridade de seu DNA (Lanzafame *et al.*, 2009), especialmente se o sistema de defesa estiver defasado ou prejudicado por outra comorbidade. Portanto, um aumento do estresse oxidativo ligado a um desequilíbrio do sistema antioxidante celular pode resultar em danos diretos ao espermatozoide (Silva *et al.*, 2014).

A presente revisão sistemática e metanálise demonstrou a diferença estatística entre os parâmetros espermáticos dos animais normoglicêmicos quando comparados aos diabéticos, em que todos os parâmetros foram afetados desfavorecendo os animais hiperglicêmicos, assim como foi documentado por Suresh *et al.*, 2013; Kong *et al.*, 2019; Akondi *et al.*, 2024 e todos os autores que foram inclusos neste trabalho.

É importante frisar que, o que foi relatado nos estudos experimentais é condizente com o que já encontramos nos ensaios clínicos, onde o aumento do estresse oxidativo ocasionado pela diabetes afeta a fisiologia reprodutiva impactando diretamente na fertilidade masculina (Conadorelli *et al.*, 2018).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora, os trabalhos tenham apresentado risco de viés incerto em metade dos domínios avaliados, demonstrando a falta de detalhamento na escrita dos pesquisadores que utilizam o modelo animal, pôde-se concluir que a diabetes impacta diretamente no sistema reprodutor masculino, com ênfase na qualidade espermática, ao inviabilizar e diminuir a concentração espermática, como também afeta sua morfologia e motilidade.

Com base nisto, se faz necessário a busca por novas terapias que sejam capazes de tratar ou remediar o impacto ocasionado pela diabetes no sistema reprodutor. Assim como é necessário ser adotado uma abordagem mais metódica, que deve ser descrita minuciosamente, ao lidarmos com experimentos pré-clínicos, a fim de evitar os vieses implicados pela falta destes detalhes em futuras publicações.

REFERÊNCIAS

- AFFRES, H. et al. Glyburide therapy for gestational diabetes: Glycaemic control, maternal hypoglycaemia, and treatment failure. **Diabetes & Metabolism**, p. 101210, nov. 2020.
- AGARWAL, A.; SALEH, R. A. Utility of oxidative stress test in the male infertility clinic. **National Journal of Andrology**, v. 8, n. 1, p. 1–9, 1 jan. 2002a.
- AGARWAL, A.; SALEH, R. A. Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. **Urologic Clinics of North America**, v. 29, n. 4, p. 817–827, nov. 2002b.
- AGBAJE, I. M. et al. Insulin dependant diabetes mellitus: implications for male reproductive function. **Human Reproduction**, v. 22, n. 7, p. 1871–1877, 1 jul. 2007.
- AKONDI, R. B. et al. Protective Effect of Rutin and Naringin on Sperm Quality in Streptozotocin (STZ) Induced Type 1 Diabetic Rats. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR**, v. 10, n. 3, p. 585, 2024.
- ALTAMIMI, J. Z. et al. Ellagic acid improved diabetes mellitus-induced testicular damage and sperm abnormalities by activation of Nrf2. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 8, p. 4300–4310, 1 ago. 2021.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 33, n. Supplement_1, p. S62–S69, 30 dez. 2010.
- BABAEI, M. et al. Evaluation of testicular glycogen storage, FGF21 and LDH expression and physiological parameters of sperm in hyperglycemic rats treated with hydroalcoholic extract of *Securigera Securidaca* seeds, and Glibenclamide. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 19, n. 1, 7 jul. 2021.
- BACCETTI, B. et al. Insulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality. **Human Reproduction**, v. 17, n. 10, p. 2673–2677, 1 out. 2002.
- BAHMANZADEH, M. et al. Dietary supplementation with astaxanthin may ameliorate sperm parameters and DNA integrity in streptozotocin-induced diabetic rats. **Clinical and Experimental Reproductive Medicine**, v. 43, n. 2, p. 90–96, 2016.

COCUZZA, M. et al. Clinical Relevance of Oxidative Stress and Sperm Chromatin Damage in Male Infertility: An Evidence Based Analysis. **International Brazilian Journal Urology**, v. 33, n. 5, p. 603–621, out. 2007.

CONDORELLI, R. A. et al. Diabetes Mellitus and Infertility: Different Pathophysiological Effects in Type 1 and Type 2 on Sperm Function. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, 25 maio 2018.

CROFFORD, O. B. DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS. **Annual Review of Medicine**, v. 46, n. 1, p. 267–279, 1 fev. 1995.

EL DIB, R. Como interpretar uma metanálise? **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 21, 2022.

EREJUWA, O. O. et al. Glibenclamide or metformin combined with honey improves glycemic control in streptozotocin-induced diabetic rats. **International Journal of Biological Sciences**, v. 7, n. 2, p. 244–252, 14 mar. 2011.

FRIEDMAN, L. S. et al. The Randomization Process. **Springer**, v. 4, 1 jan. 2010.

GHANBARI, E. et al. Study on the effect of royal jelly on reproductive parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. **International Journal of Fertility and Sterility**, v. 9, n. 1, p. 113–120, 29 abr. 2015.

HIGGINS, J. P. T. et al. (EDS.). **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Versão 6.4**. Disponível em: <www.training.cochrane.org/handbook>.

HIGGINS, J. P. T.; THOMPSON, S. G. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. **Statistics in medicine**, v. 21, n. 11, p. 1539–58, 2002.

HOOIJMANS, C. R. et al. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **BMC Medical Research Methodology**, v. 14, n. 43, p. 43, 26 mar. 2014.

HUANG, H.-F. et al. The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. **Asian Journal of Andrology**, v. 17, n. 6, p. 948, 2015.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF). **IDF Diabetes Atlas 10th edition 2021**. Disponível em: <<https://diabetesatlas.org/>>. Acesso em ???(data)

JAFAR, N.; EDRISS, H.; NUGENT, K. The Effect of Short-Term Hyperglycemia on the Innate Immune System. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 351, n. 2, p. 201–211, fev. 2016.

KALAITZOGLOU, E. et al. Effects of Type 1 Diabetes on Osteoblasts, Osteocytes, and Osteoclasts. **Current Osteoporosis Reports**, v. 14, n. 6, p. 310–319, 4 out. 2016.

KILKENNY, C. et al. Survey of the Quality of Experimental Design, Statistical Analysis and Reporting of Research Using Animals. **PLoS ONE**, v. 4, n. 11, p. e7824, 30 nov. 2009.

KONG, Z.-L. et al. Fucoxanthin-Rich Brown Algae Extract Improves Male Reproductive Function on Streptozotocin-Nicotinamide-Induced Diabetic Rat Model. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4485, 11 set. 2019.

LA VIGNERA, S. et al. Diabetes Mellitus and Sperm Parameters. **Journal of Andrology**, v. 33, n. 2, p. 145–153, 7 abr. 2011.

LAI, H. et al. Risk of incident diabetes after COVID-19 infection: A systematic review and meta-analysis. **Metabolism**, v. 137, p. 155330, dez. 2022.

LANZAFAME, F. M. et al. Oxidative stress and medical antioxidant treatment in male infertility. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 19, n. 5, p. 638–659, nov. 2009.

LAVRANOS, G. et al. Investigating ROS sources in male infertility: A common end for numerous pathways. **Reproductive Toxicology**, v. 34, n. 3, p. 298–307, nov. 2012.

LING, S. et al. Association of Type 2 Diabetes With Cancer: A Meta-analysis With Bias Analysis for Unmeasured Confounding in 151 Cohorts Comprising 32 Million People. **Diabetes Care**, v. 43, n. 9, p. 2313–2322, 11 ago. 2020.

MÄKIMATTILA, S. et al. Chronic Hyperglycemia Impairs Endothelial Function and Insulin Sensitivity Via Different Mechanisms in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. **Circulation**, v. 94, n. 6, p. 1276–1282, 15 set. 1996.

MAKKER, K.; AGARWAL, A.; SHARMA, R. Oxidative stress & male infertility. **Indian Journal of Medical Research**, v. 129, n. 4, p. 357–367, abr. 2009.

MANGOLI, E. et al. Effects of experimentally-induced diabetes on sperm parameters and chromatin quality in mice. **Iranian Journal of Reproductive Medicine**, v. 11, n. 1, p. 53–60, 1 jan. 2013.

MARIN, C. et al. The Impact of Type 2 Diabetes on Bone Fracture Healing. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, 24 jan. 2018.

MARRE, M. et al. Improved glycaemic control with metformin-glibenclamide combined tablet therapy (GlucovanceR) in Type 2 diabetic patients inadequately controlled on metformin. **Diabetic Medicine**, v. 19, n. 8, p. 673–680, ago. 2002.

MOHAMED, N. A. et al. Ameliorative effects of bee pollen and date palm pollen on the glycemic state and male sexual dysfunctions in streptozotocin-Induced diabetic wistar rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 97, p. 9–18, jan., 2018.

NANSEL, T. R.; LIPSKY, L. M.; LIU, A. Greater diet quality is associated with more optimal glycemic control in a longitudinal study of youth with type 1 diabetes. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 104, n. 1, p. 81–87, 18 maio 2016.

NNA, V. U. et al. Down-regulation of steroidogenesis-related genes and its accompanying fertility decline in streptozotocin-induced diabetic male rats: ameliorative effect of metformin. **Andrology**, v. 7, n. 1, p. 110–123, 4 dez. 2018.

ORIDUPA, O. et al. Effect of Traditional Treatment of Diabetes Mellitus with Xanthosoma sagittifolium on the Male Reproductive System of Alloxan-Induced Diabetic Wistar Rats. **Drug Research**, v. 67, n. 06, p. 337–342, 13 mar. 2017.

PAGE, M. J. et al. The PRISMA 2020 statement: an Updated Guideline for Reporting Systematic Reviews. **British Medical Journal**, v. 372, n. 71, 29 mar. 2021.

POLUNAS, M. et al. Role of oxidative stress and the mitochondrial permeability transition in methylmercury cytotoxicity. **NeuroToxicology**, v. 32, n. 5, p. 526–534, out. 2011.

POURHEYDAR, B. et al. Effect of silymarin and metformin on the sperm parameters and histopathological changes of testes in diabetic rats: An experimental study. **International Journal of Reproductive BioMedicine (IJRM)**, v. 19, n. 12, p. 1091–1104, 2021.

REEVES, M. L. et al. Glycemic control in insulin-dependent diabetes mellitus. **The American Journal of Medicine**, v. 72, n. 4, p. 673–680, abr. 1982.

ROESSNER, C. et al. Sperm apoptosis signalling in diabetic men. **Reproductive Biomedicine Online**, v. 25, n. 3, p. 292–299, 1 set. 2012.

ROLO, A. P.; PALMEIRA, C. M. Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 212, n. 2, p. 167–78, 2006.

SENGUPTA, P. et al. Oxidative Stress and Idiopathic Male Infertility. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 1, p. 181–204, 1 jan. 2022.

SEXTON, W. J.; JAROW, J. P. Effect of diabetes mellitus upon male reproductive function. **Urology**, v. 49, n. 4, p. 508–513, abr. 1997.

SILVA, R. F. et al. Phytoremediation Potential of Maná-Cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) for the Deleterious Effects of Methylmercury on the Reproductive System of Rats. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–9, 1 jan. 2014.

SUH, J. et al. Association between early glycemic management and diabetes complications in type 1 diabetes mellitus: A retrospective cohort study. **Primary Care Diabetes**, v. 17, n. 1, p. 60–67, fev. 2023.

SURESH, S. et al. Effect of *Mucuna pruriens* (Linn.) on mitochondrial dysfunction and DNA damage in epididymal sperm of streptozotocin induced diabetic rat. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, n. 1, p. 32–41, jan. 2013.

VARELLA, D. **A história do diabetes | Artigo**. Disponível em:

<<https://drauziovarella.uol.com.br/doencas-cronicas/diabetes/a-historia-do-diabetes-artigo/>>.

Acesso em: 4 jul. 2023.